



## 添加硒对蛹虫草富硒的影响\*

李海霞<sup>1,2</sup>, 舒智林<sup>1,2</sup>, 李翠新<sup>1,2</sup>, 何德<sup>1,2\*\*</sup>

1. 西南林业大学生物与食品工程学院, 昆明 650224; 2. 云南省高校林木生物技术重点实验室, 昆明 650224

**摘要:** 为了探究不同硒源对蛹虫草子实体硒富集的影响,在蛹虫草不同生长阶段(菌丝期、转色期、原基期和生长期)添加梯度浓度的4种外源硒(亚硒酸钠、纳米硒、螯合硒和酵母硒),采用邻苯二胺紫外分光光度法测定采摘后子实体的总硒含量和有机硒含量,分析比较4个生长阶段添加4种梯度浓度的外源硒对蛹虫草子实体硒富集的影响。结果显示:与对照组相比,所有处理组均显著提高了蛹虫草子实体中的总硒和有机硒含量( $P < 0.05$ )。其中,在转色期添加16 mg/L的亚硒酸钠效果最佳,子实体总硒和有机硒含量达到最大值,分别为115.17和105.20  $\mu\text{g/g}$ ,富硒率为719.79%,有机化率为91.34%,是对照组的2.34倍。不同硒源处理蛹虫草子实体达到最大硒含量所需的浓度虽不同,但均在转色期达到最大值,说明硒添加时期对子实体硒含量具有显著影响。研究结果为开发新型天然补硒产品提供了重要依据。

**关键词:** 蛹虫草; 生长时期; 硒源; 总硒; 有机硒

中图分类号: S567.3 文献标志码: A 文章编号: 1672-3538(2026)01-0061-09

DOI: 10.13341/j.jfr.2024.1706

引文格式: 李海霞,舒智林,李翠新,等.添加硒对蛹虫草富硒的影响[J].菌物研究,2026,24(1):61-69.

## Effect of Selenium Supply on Selenium Enrichment in *Cordyceps militaris*

LI Haixia<sup>1,2</sup>, SHU Zhilin<sup>1,2</sup>, LI Cuixin<sup>1,2</sup>, HE De<sup>1,2\*\*</sup>

1. College of Biological Science and Food Engineering, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. Key Laboratory of Forest Biotechnology of Yunnan Province, Kunming 650224, China

**Abstract:** In order to investigate the effects of different selenium sources on selenium enrichment within fruiting bodies of *Cordyceps militaris*, four chemical compounds of exogenous selenium (sodium selenite, nano-selenium, chelated selenium and yeast selenium) with various concentrations were added to culture media at the different growth stages (mycelial stage, color transformation stage, primordial stage and growth stage) of *C. militaris*. Contents of total selenium and organic selenium of the harvested fruiting bodies were measured by using o-phenylenediamine ultraviolet spectrophotometry for analysis and comparison of the effects induced by supplying exogenous selenium with a concentration gradient treatment on the selenium enrichment at four growth stages of *C. militaris*. The results showed clearly that all of groups treated with the supply of exogenous

\* 基金项目: 国家自然科学基金项目(31260041),云南省大学生创新创业训练计划项目(20190459024),云南省23YS乡村振兴发展科技专项(云南省科技特派员)项目(990023179,990023177),生物学质量工程项目(503190106)

作者简介: 李海霞,女,硕士研究生,研究方向:食用菌开发与利用。

收稿日期: 2024-01-16

\*\* 通信作者: 何德, E-mail: hedexiner@163.com

selenium significantly increased the content of total selenium and organic selenium in *C. militaris* fruiting bodies when compared with their controls. When 16 mg/L sodium selenite was added at the color transformation stage, the content of both total selenium and organic selenium of *C. militaris* fruiting bodies reached the maximal value, showing 115.17  $\mu\text{g/g}$  with an enrichment rate of selenium of 719.79% and 105.20  $\mu\text{g/g}$  with an organic conversion rate of 91.34% respectively, in which the rate of organic conversion was 2.34 times higher than that of the control. The above results should provide an important foundation for the future research and development of new and natural supplements of selenium.

**Key words:** *Cordyceps militaris*; growth period; selenium source; total selenium; organic selenium

硒是人体必需的微量元素。研究表明,硒与克山病、大骨节病、心血管病及癌症<sup>[1-3]</sup>等多种疾病密切相关,适量补硒可明显改善相关病症<sup>[4-5]</sup>。然而,硒在自然界中的分布极不均匀,全球有40多个国家存在硒缺乏问题。中国是硒资源较为匮乏的国家之一,约有2/3的地区为缺硒或低硒区<sup>[6]</sup>,超过10亿人口生活在缺硒环境中,因缺硒所引发的克山病、癌症等疾病已严重威胁公众健康。目前人体补充硒元素的主要途径有:硒保健药物、食物补硒和硒营养强化剂等<sup>[7]</sup>,其中以食物补硒最为经济、安全且有效。研究发现,无机硒的生物学活性小于有机硒且不易被人体吸收和利用,相比之下,有机硒具有更高的安全性和吸收利用率<sup>[8-11]</sup>。

蛹虫草 *Cordyceps militaris* (L.) 又称北冬虫夏草<sup>[12]</sup>,是目前公认的食药两用虫草之一,被誉为冬虫夏草的替代品<sup>[13]</sup>,药用价值极高。蛹虫草富含虫草多糖和超氧化物歧化酶等多种生物活性物质,硒也是蛹虫草中重要的生物活性成分。食用菌对硒具有较强的富集能力,是良好的硒富集载体<sup>[9]</sup>。以蛹虫草为富硒载体时,无机硒在蛹虫草体内通过菌丝细胞内物质代谢的转化,结合到大分子活性物质上,转化为有机硒多糖和硒蛋白等<sup>[14]</sup>,更有利于人体吸收,还能发挥硒和食用菌固有以及协同的生理功能,兼具毒理安全性和生理活性。

近年来,利用生物转化技术获取低毒、高效的有机硒已成为补硒研究的重要方向<sup>[11]</sup>。在生物载体选择方面,目前已成功利用食用菌为载体培育出富硒灵芝、富硒金针菇、富硒平菇、富硒香菇等品种,通过农作物载体栽培出富硒水稻、富硒玉米、富硒麦芽、富硒茶叶、富硒草莓等产品,并利用

动物载体生产出富硒鸡蛋等。其中,富硒酵母的研究起步最早,成果也较为丰富。齐秀兰等<sup>[15]</sup>通过啤酒酵母菌对无机硒的有机转化研究结果表明,不同加硒时间对有机硒的转化有重要影响,提示在微生物不同生长发育阶段添加硒可能会影响有机硒的转化。Hu等<sup>[16]</sup>使用5种硒浓度及3种硒形态(硒酸盐、亚硒酸盐和硒蛋氨酸)栽培蛹虫草,发现经硒酸盐和亚硒酸盐处理后,能显著提高蛹虫草的硒含量和生物效益,虫草素和腺苷的丰度也有所增加。尽管已有研究报道不同硒源对蛹虫草硒富集的影响,但关于在其不同生长阶段添加硒源的研究尚未见报道。因此,本研究拟在蛹虫草的不同生长时期添加4种浓度梯度的硒源(亚硒酸钠、纳米硒、螯合硒和酵母硒),探究其对蛹虫草子实体硒富集的影响以及有机硒转化效率的变化。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验用原始蛹虫草菌种(CM001)由中国农业大学生物学院食用菌研究室提供,保存于西南林业大学食用菌栽培与利用实训基地和大学生创新创业食用菌资源保护与开发利用推广中心工作室。

主要试剂:亚硒酸钠、亚硒酸(Sigma-Aldrich);十二烷基硫酸钠(上海易恩科技有限公司);安琪干酵母(安琪酵母有限公司);螯合硒(成都华宏生物科技有限公司);EDTA-2Na(Solarbio, From Amresco);维生素C、盐酸羟胺、邻苯二胺(上海源叶生物科技有限公司);盐酸、甲苯(云南杨林工业开发区汕滇药业有限公司);浓硝酸(四川西陇化工有限公司);高氯酸(天津市鑫源

化工有限公司),所有试剂均为分析纯。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 培养基配方** PDA固体改良培养基:马铃薯200 g,葡萄糖15 g,蔗糖10 g,淀粉5 g,蛋白胨5 g,酵母膏3 g,磷酸二氢钾1 g,硫酸镁1 g,琼脂8 g,加蒸馏水定容至1 L,121 °C灭菌20 min。

PDA液体改良培养基:PDA固体改良培养基不添加琼脂。

大米培养基:大米30 g/瓶,营养液42 mL/瓶(营养液:葡萄糖9.1 g,酵母粉3.6 g,蛋白胨3.6 g,磷酸二氢钾1 g,硫酸镁1 g,蒸馏水定容到1 L,121 °C灭菌35 min)。

酵母固体培养基:马铃薯20 g,蔗糖2 g,琼脂2 g,定容至100 mL。121 °C灭菌20 min。

酵母液体富硒培养基:葡萄糖20 g,甘氨酸10 g,磷酸二氢钾0.5 g,酵母浸膏4 g,甘油0.4 g,亚硒酸钠8 mg,蒸馏水定容至1 L,121 °C灭菌20 min。

**1.2.2 菌种制备** 母种制备:采用组织分离法<sup>[17-18]</sup>,挑选粗壮不分叉的优良子实体,经表面灭菌后接种于PDA固体斜面培养基培养得到母种。

液体菌种制备:无菌条件下从母种试管斜面挑取小块接种至PDA液体培养基中,于23 °C、135 r/min条件下避光振荡培养5~6 d获得液体菌种<sup>[19]</sup>。

**1.2.3 酵母硒和纳米硒制备** 采用王新风等<sup>[20]</sup>方法以安琪干酵母粉为原料制备得到富硒酵母,并于45 °C烘箱中烘干待用。

纳米硒制备参考李志林等<sup>[21]</sup>方法,采用十二烷基硫酸钠模板法进行制备。

**1.2.4 实验组设置** 4种硒源的质量浓度梯度分别设置为:亚硒酸钠16,18,20,22,24 mg/L;纳米硒3,6,9,12,15 mg/L;螯合硒3,6,9,12,15 mg/L;酵母硒3,6,9,12,15 mg/L(酵母硒按照富硒酵母中的硒含量添加)。采用瓶栽法,于超净工作台将制备好的液体菌种接种至大米培养基中,每瓶接种3 mL。避光培养10~15 d,待菌丝长满培养基后,进行光照培养。

**1.2.5 不同生长阶段加硒处理** 硒添加时期分为4个阶段:菌丝期(JS)、转色期(ZS)、原基期(YJ)和子座芽生长期(SZ),下文表格按硒源和浓度简写表示(如在菌丝期施加16 mg/L简写为JS16)。菌丝期,在配制大米培养基时添加对应浓

度的外源硒;转色期,在接种后暗培养至菌丝长满培养基,且菌丝颜色由白色开始转变成橘黄色时,于超净工作台内添加对应浓度外源硒;原基期,在光照培养至菌丝转色完成后继续发菌至长出原基时,在超净工作台内添加对应浓度外源硒;子座芽生长期,在原基之后子座芽长至1~2 cm时,于超净工作台内添加对应浓度外源硒。瓶栽时,无菌操作不当可引起培养基污染,在菌丝期易出现污染,因此待菌丝长满整个培养基形成优势菌群后再添加外源硒,可显著降低污染率。

**1.2.6 硒含量测定** 采用紫外分光光度法,利用邻苯二胺和 $\text{Se}^{4+}$ 在酸性介质中络合反应生成3,4-苯并-1,2,5-重氮苯硒脑,经甲苯萃取后于335 nm波长处测定吸光值<sup>[22-23]</sup>。

(1)硒标准曲线绘制。称取0.219 g亚硒酸钠,以少量蒸馏水溶解后,加蒸馏水定容至100 mL,制备成 $\text{Se}^{4+}$ 含量为1 g/L的母液<sup>[24]</sup>。取1 mL母液用蒸馏水定容至250 mL,配置成4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的硒溶液,分别取0,1,2,4,8,10,12.5,25,50 mL该溶液,以蒸馏水定容至50 mL,得到质量浓度0,0.08,0.16,0.32,0.64,0.8,1,2,4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的硒溶液。各取10 mL于试管中,依次加入2 mL的EDTA-2Na溶液、2 mL体积分数40%的盐酸羟胺,混匀后调pH至2,加入2 mL体积分数0.2%的邻苯二胺,静置2 h再加入10 mL甲苯,振荡2 min后静置5 min,取出甲苯层,以甲苯参比,于335 nm处测量吸光度。

(2)总硒测定。参考张园园等<sup>[25]</sup>方法进行样品消解,称取1.0 g蛹虫草粉,加入15 mL混酸(V硝酸:V高氯酸=9:1),于通风橱中小火加热消解。待消解液骤然冒出大量白烟且溶液呈透明或者微黄色时停止加热,加入5 mL体积分数20%的盐酸,继续加热至溶液透明并有白烟出现时,结束消解。冷却后用蒸馏水定容至25 mL,取10 mL按照标准曲线方法测定吸光值,计算其相应的硒含量。总硒含量= $X_1V_1/V_2M_1$ ,式中 $X_1$ 为代入标曲方程计算的硒含量( $\mu\text{g}$ ), $V_1$ 为样品消化后定容的总体积(mL), $V_2$ 为吸取的体积(mL), $M_1$ 为样品质量(g)。

(3)无机硒测定。参考张园园等<sup>[25]</sup>方法并稍作改进,称取1.0 g蛹虫草粉置于玻璃瓶中,加入25 mL蒸馏水混匀,超声处理1 h后沸水溶

30 min, 4 000 r/min 离心 10 min 除去沉淀, 将上清液加混酸消解, 消解完全后定容至 10 mL, 按照标准曲线的方法测定吸光值, 计算其相应的无机硒含量。无机硒含量 $=X_2V_3/V_4M_2$ , 式中  $X_2$  为代入标曲方程计算的硒含量( $\mu\text{g}$ ),  $V_3$  为样品消化后定容的总体积(mL),  $V_4$  为吸取的体积(mL),  $M_2$  为样品重量(g)。

(4) 有机硒含量、转化率及富硒率计算。有机硒含量( $\mu\text{g/g}$ )=总硒含量-无机硒含量<sup>[25]</sup>, 有机硒转化率(有机化率)(%)=(有机硒含量/总硒含量) $\times 100$ , 富硒率(%)=[总硒浓度/培养基中硒浓度(以营养液计)] $\times 100$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线方程

以硒含量为横坐标, 吸光度为纵坐标, 所得标准曲线如图 1 所示。结果表明, 在硒含量 0~40  $\mu\text{g/g}$  时吸光度与硒含量呈线性关系, 线性回归方程式为  $y=0.014 0x+0.023 4$  ( $R^2=0.997 8$ )。将制备的富硒酵母按照总硒测定方法测得吸光值后代入硒标准曲线方程, 可得富硒酵母中硒含量为 4 130  $\mu\text{g/g}$ 。

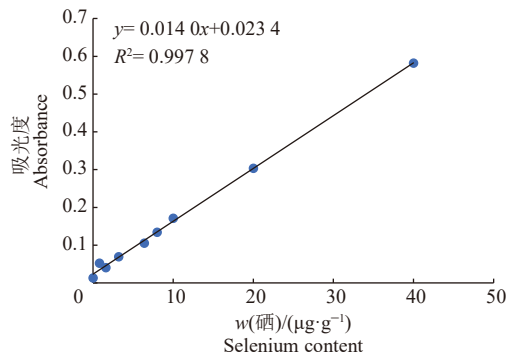


图 1 硒标准曲线

Fig. 1 Standard curve of selenium content

### 2.2 不同生长时期添加亚硒酸钠对蛹虫草富硒的影响

各添加亚硒酸钠试验组总硒和有机硒含量均显著高于对照组 ( $P<0.05$ )。其中, 在转色期添加 16 mg/L 的亚硒酸钠时, 子实体的总硒和有机硒含量最高, 分别为 115.17 和 105.20  $\mu\text{g/g}$ , 有机化率为 91.34%, 富硒率为 719.79%, 有机化率是对照组 (ck) 的 2.34 倍。在不同生长时期添加亚硒酸钠对蛹虫草子实体硒积累的影响存在差异, 在菌丝期、原基期和子座芽生长期子实体硒含量均随硒浓度增加呈先上升后下降的趋势, 转色期则表现为先降后升再降的趋势, 可能与子实体对硒的毒性适

应过程有关, 且各时期硒含量达到最大值时添加的亚硒酸钠浓度不同。有机化率方面, 各时期依次为菌丝期>原基期>转色期>子座芽生长期, 表明蛹虫草在不同生长时期对硒的有机转化能力存在差异。在不同时期, 子实体的有机化率随着浓度梯度变化而改变, 菌丝期和转色期呈先降后升再降的趋势, 原基期呈先升后降再升再降的趋势, 而子座芽生长期呈先上升后下降的趋势(表 1)。

### 2.3 不同生长时期添加纳米硒对蛹虫草富硒的影响

在转色期添加 9 mg/L 纳米硒时, 蛹虫草子实体的总硒和有机硒含量均为最高, 且与其他组别差异显著 ( $P<0.05$ ), 该条件下总硒含量为 54.69  $\mu\text{g/g}$ , 有机硒含量为 48.86  $\mu\text{g/g}$ , 有机化率为 89.34%, 富硒率为 607.67%, 有机化率是对照组的 2.29 倍。同种硒源下, 蛹虫草子实体的富硒能力强于秀珍菇<sup>[26]</sup>和竹荪<sup>[27]</sup>。在不同生长时期添加相同浓度的纳米硒时, 转色期子实体总硒含量最高。在有机化率方面, 各时期依次为原基期>子座芽生长期>转色期>菌丝期, 表明有机化率随硒浓度变化表现不同, 菌丝期和原基期呈先升后降再升的趋势, 而转色期和子座芽生长期呈先降后升再降再升的趋势(表 2)。

### 2.4 不同生长时期添加螯合硒对蛹虫草富硒的影响

在转色期加入 15 mg/L 螯合硒时, 子实体总硒和有机硒含量均达到最高, 分别为 86.18 和 70.14  $\mu\text{g/g}$ , 有机化率为 81.38%, 富硒率为 574.52%, 有机化率是对照组的 2.09 倍。总硒和有机硒含量在转色期随浓度梯度呈上升趋势, 而其他 3 个时期则均为先上升后下降趋势。同一时期有机化率随浓度变化波动较小, 各时期有机化率依次为菌丝期>原基期>子座芽生长期>转色期, 且所有处理的总体有机化率均在 70% 以上(表 3)。

### 2.5 不同生长时期添加酵母硒对蛹虫草富硒的影响

在转色期加入 12 mg/L 的酵母硒时, 子实体的总硒和有机硒含量最高, 分别为 103.68 和 84.47  $\mu\text{g/g}$ , 有机化率 81.47%, 富硒率 863.99%, 有机化率是对照组的 2.09 倍(表 4)。在不同时期添加不同浓度的酵母硒, 子实体的总硒和有机硒含量均呈现先上升后下降的趋势。其中, 菌丝期、转色期和原基

表1 添加亚硒酸钠对子实体硒含量的影响

Table 1 Effect of sodium selenite supply on the changes of selenium content in fruiting body

n=3

$\rho$ (亚硒酸钠)/(mg·L <sup>-1</sup> ) Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> concentration	$w$ (总硒)/(μg·g <sup>-1</sup> ) Total selenium	$w$ (有机硒)/(μg·g <sup>-1</sup> ) Organic selenium	有机化率/% Organic rate	富硒率/% Selenium enrichment rate
ck	1.00±0n	0.39±0l	39.00	—
JS16	61.60±0.05j	58.91±0.05g	95.64	384.97
JS18	68.80±0.30i	65.28±0.31e	94.88	382.21
JS20	84.57±1.68efg	80.31±1.68c	94.97	422.86
JS22	88.32±2.51def	84.56±2.50c	95.75	401.46
JS24	74.99±0.94h	61.87±0.94efg	82.51	312.45
ZS16	115.17±3.03a	105.20±3.03a	91.34	719.79
ZS18	33.02±0.55m	15.81±0.56k	47.89	183.47
ZS20	58.32±0.88j	35.73±0.86j	61.27	291.61
ZS22	75.88±1.00h	47.26±1.02ef	62.28	344.91
ZS24	34.57±0l	16.74±0.06k	48.43	144.05
YJ16	93.56±0.38c	81.40±0.40c	87.00	584.75
YJ18	113.50±0.15a	105.17±0.15a	92.66	630.56
YJ20	83.80±0.10fg	72.95±0.11d	87.05	418.99
YJ22	65.70±0.56i	59.35±0.57g	90.33	298.65
YJ24	45.88±0.05k	38.98±0.05ij	84.96	191.17
SZ16	80.7±0.39g	42.33±0.37i	52.45	504.39
SZ18	90.46±0.08cd	60.06±0.08fg	66.40	502.58
SZ20	108.26±0.13b	93.93±0.13b	86.76	541.31
SZ22	89.10±0.10de	49.27±0.10h	55.30	404.98
SZ24	84.69±0.05efg	38.41±0.04ij	45.35	352.88

注:同列不同小写字母表示差异性显著( $P<0.05$ ),下同Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ( $P<0.05$ ). The same below

表2 添加纳米硒对子实体硒含量的影响

Table 2 Effect of nano-selenium supply on the changes of selenium content in fruiting body

n=3

$\rho$ (纳米硒)/(mg·L <sup>-1</sup> ) Nano selenium concentration	$w$ (总硒)/(μg·g <sup>-1</sup> ) Total selenium	$w$ (有机硒)/(μg·g <sup>-1</sup> ) Organic selenium	有机化率/% Organic rate	富硒率/% Selenium enrichment rate
ck	1.00±0n	0.39±0o	39.00	—
JS3	33.26±0.34k	23.15±0.34i	69.59	1 108.73
JS6	41.36±0.17f	32.67±0.17d	79.00	689.29
JS9	40.46±0.22g	20.64±0.22j	51.00	449.60
JS12	33.56±0.18k	10.02±0.18n	29.85	279.66
JS15	33.26±0.05k	18.79±0.05k	56.49	221.75
ZS3	39.27±0.42h	34.40±0.40c	87.58	1 309.31
ZS6	42.55±0.05de	29.29±0.05g	68.84	709.13
ZS9	54.69±0.05a	48.86±0.05a	89.34	607.67
ZS12	50.52±0.05b	30.84±0.05ef	61.04	421.03
ZS15	47.67±0.05c	31.10±0.03ef	65.24	317.78
YJ3	22.25±0m	13.30±0.04m	59.79	741.67
YJ6	38.20±0.38i	23.40±0.40i	61.25	636.71
YJ9	41.83±0.27ef	28.31±0.28h	67.68	464.81
YJ12	29.87±0.18l	17.75±0.18l	59.44	248.91
YJ15	22.07±0.29m	21.24±0.29j	96.25	147.14
SZ3	33.98±0.05k	31.00±0.05ef	91.25	1 132.54
SZ6	38.02±0.35i	34.05±0.35c	89.56	633.73
SZ9	42.07±0def	38.74±0b	92.09	467.46
SZ12	42.90±0.05d	31.62±0.04e	73.71	357.54
SZ15	35.35±0.05j	30.45±0.05f	86.14	235.63

表3 添加螯合硒对子实体硒含量的影响

Table 3 Effect of chelated selenium supply on the change of selenium content in fruiting body  $n=3$ 

$\rho$ (螯合硒)/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) Chelated selenium concentration	$w$ (总硒)/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) Total selenium	$w$ (有机硒)/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) Organic selenium	有机化率/% Organic rate	富硒率/% Selenium enrichment rate
ck	1.00±0q	0.39±0u	39.00	—
JS3	41.60±0.42i	39.68±0.42i	95.40	1 386.51
JS6	63.62±0.49d	58.93±0.49c	92.63	1 060.32
JS9	67.85±0.32c	61.41±0.32b	90.51	753.84
JS12	62.61±0e	50.71±0e	80.99	521.73
JS15	55.52±0.10f	49.85±0.10f	89.78	370.16
ZS3	20.94±0.05p	18.29±0.05t	87.35	698.02
ZS6	23.68±0o	21.06±0s	88.96	394.64
ZS9	41.18±0i	34.56±0.00l	83.94	457.54
ZS12	69.63±0.05b	56.81±0.04d	81.59	580.26
ZS15	86.18±0a	70.14±0a	81.38	574.52
YJ3	29.39±0n	26.64±0p	90.62	979.76
YJ6	39.57±0j	36.15±0.01k	91.35	659.52
YJ9	48.50±0.15h	40.92±0.15h	84.37	538.89
YJ12	55.64±0f	44.78±0g	80.47	463.69
YJ15	31.71±0m	23.60±0	74.41	211.43
SZ3	32.25±0.08m	29.14±0.08o	90.34	1 075.00
SZ6	37.73±0.10k	30.49±0.10n	80.83	628.77
SZ9	41.65±0.18i	32.50±0.18m	78.03	462.83
SZ12	50.82±0g	37.31±0j	73.42	423.51
SZ15	34.63±0.05l	24.59±0.05q	71.00	230.87

表4 添加酵母硒对子实体硒含量的影响

Table 4 Effect of yeast selenium supply on the changes of selenium content in fruiting body  $n=3$ 

$\rho$ (酵母硒)/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) Selenium yeast concentration	$w$ (总硒)/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) Total selenium	$w$ (有机硒)/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) Organic selenium	有机化率/% Organic rate	富硒率/% Selenium enrichment rate
ck	1.00±0u	0.39±0t	39.00	—
JS3	39.15±0.05q	34.06±0.06q	87.00	1 305.16
JS6	45.35±0.05o	39.16±0.05n	86.36	755.75
JS9	53.62±0.05k	43.29±0.05k	80.74	595.77
JS12	81.24±0.05c	67.22±0.05c	82.74	676.98
JS15	65.64±0.08g	54.48±0.07h	83.00	437.62
ZS3	38.44±0.05r	35.04±0.05p	91.16	1 281.35
ZS6	50.17±0.10m	42.29±0.11l	84.30	836.11
ZS9	67.67±0.05f	55.50±0.04g	82.03	751.85
ZS12	103.68±0.08a	84.47±0.10a	81.47	863.99
ZS15	73.32±0.30d	60.61±0.30e	82.67	488.81
YJ3	32.13±0.05s	30.80±0.05r	95.87	1 071.03
YJ6	53.08±0.05l	44.97±0.05j	84.71	884.72
YJ9	64.87±0.05h	56.11±0.05f	86.50	720.77
YJ12	87.31±0.10b	69.84±0.10b	79.99	727.58
YJ15	62.79±0.15i	51.86±0.17i	82.60	418.57
SZ3	27.61±0t	25.21±0s	91.31	920.24
SZ6	47.07±0n	41.24±0m	87.62	784.52
SZ9	71.36±0e	61.53±0d	86.23	792.86
SZ12	58.32±0j	52.09±0.02i	89.31	486.01
SZ15	43.32±0p	38.56±0o	89.02	288.81

期均在 12 mg/L 浓度的处理下,总硒和有机硒含量达到最大值,而子座芽生长期则在 9 mg/L 时出现最大值。此外,不同处理下的有机硒转化率多为 80%~90%,从高到低依次为原基期>子座芽生长期>转色期>菌丝期。

## 2.6 4种硒源的最佳处理组筛选

依据处理组子实体的总硒和有机硒含量同时达到最大值时为最佳处理组,此时添加硒源的生长时期为最佳时期。4种硒源的最佳处理组

分别为转色期添加质量浓度 16 mg/L 的亚硒酸钠(Y-ZS16)、转色期添加 9 mg/L 纳米硒(N-ZS9)、转色期添加 15 mg/L 整合硒(A-ZS15)、转色期添加 12 mg/L 酵母硒(J-ZS12),表明转色期是外源硒添加的最佳时期。如图 2 所示,Y-ZS16 的效果最优,该组子实体的总硒和有机硒含量均显著高于其他 3 组( $P<0.05$ ),有机化率也高于其他组别。

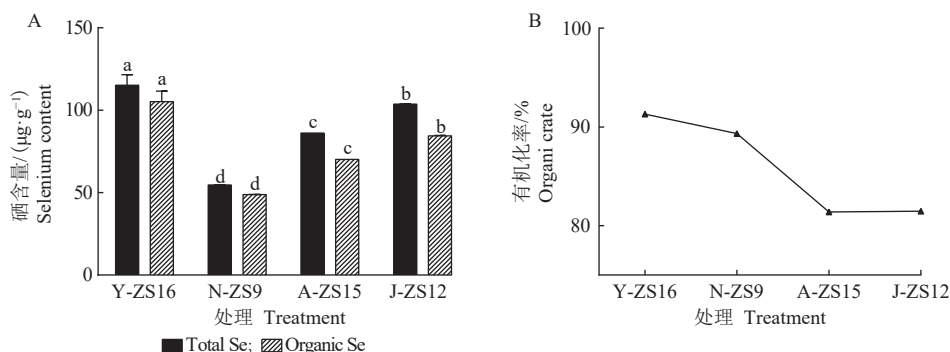


图2 4种硒源处理下子实体硒含量(A)及有机化率(B)

Fig. 2 Content (A) and organic rate (B) of selenium obtained under the optimal treatment of four selenium sources

## 3 讨论

蛹虫草的生物活性成分含量与菌种选育<sup>[28]</sup>、栽培基质和培养方式<sup>[29]</sup>等因素相关,本研究在蛹虫草的4个生长时期(菌丝期、转色期、原基期、子座芽生长期)分别添加不同浓度的亚硒酸钠、纳米硒、整合硒、酵母硒。结果显示,不同硒源使蛹虫草子实体达到最大硒含量所需的浓度虽不同,但均在转色期达到最大值,说明添加硒的时期对子实体硒含量具有显著影响。在蛹虫草常规生产中,硒源多在大米培养基制作时(菌丝期)添加,可能会错失最佳富硒时期,导致子实体富硒量未能达到最大值,造成硒源利用不充分。如果在生产时将硒添加时间调整至转色期,此时菌丝已长满培养基形成优势菌群,污染率大幅降低,既可减少硒源添加成本又能提高生产效益。

关于富硒蛹虫草栽培的研究多集中于在大米培养基配制初期添加硒源(即本实验中的菌丝期),杜双田等<sup>[30]</sup>通过常规瓶栽法研究不同质量浓度(0、50、100、150、200、250 mg/L)亚硒酸钠对蛹虫草子座硒含量的影响。Hu等<sup>[16]</sup>采用5种

浓度(0、5、10、20、40 µg/g)和3种硒形态(硒酸盐、亚硒酸盐和硒代蛋氨酸)培养蛹虫草,结果显示不同硒源处理下子实体总硒含量均随处理浓度的增加而上升,在40 µg/g 硒酸盐处理下硒含量达到最大值 130.9 µg/g。本研究在菌丝期添加亚硒酸钠时,硒含量先升后降,与Hu等研究中直线上升的趋势结果不同,但与马麦艳等<sup>[31]</sup>研究结果一致。本研究在转色期添加 16 mg/L 的亚硒酸钠时硒含量达到最大值 115.17 µg/g,虽低于Hu等的报道,但高于杜双田等<sup>[30]</sup>的结果(92.68 mg/kg),该条件下有机硒占比 91.34%。齐秀兰等<sup>[15]</sup>研究表明,在啤酒酵母对数生长期添加亚硒酸钠可提高硒转化率,表明添加时期对硒转化效果具有重要影响,与本研究的结论一致。

在其他食用菌中,也有关于不同硒源影响硒富集能力的报道。如刘晓蕾等<sup>[26]</sup>研究发现添加的纳米硒浓度与秀珍菇子实体硒含量成正比,40 mg/L 时子实体硒含量达到最大值 25 mg/kg。徐联鹏等<sup>[32]</sup>研究发现当亚硒酸钠添加量为 55 mg/kg 时,秀珍菇子实体中硒含量最高为 2.81 µg/g。以上研究表明纳米硒更易于被秀珍菇吸收。陈新

宇等<sup>[27]</sup>采用纳米硒、富硒氨基酸液肥和螯合硒栽培竹荪子实体,结果显示相同质量浓度(10 mg/L)下纳米硒处理所得子实体的硒含量达到最大值17.62 mg/kg。本研究在菌丝期添加相同浓度的螯合硒和纳米硒,螯合硒处理条件下蛹虫草子实体硒含量更高,说明不同硒源对不同食用菌的硒富集效果存在差异,最佳硒源可能因菌种而不同。此外,不同富硒载体对硒源的反应也可能不同,如与螯合硒相比,亚硒酸钠更易于被水稻吸收<sup>[33]</sup>。

目前已有研究中,富硒虫草子实体中有机硒占总硒的比例约80%,如钟鸣等<sup>[14]</sup>报道富硒蛹虫草子实体中最高硒含量为89.49  $\mu\text{g/g}$ ,有机硒占85.96%。张驰<sup>[34]</sup>研究恩施人工栽培的富硒虫草子实体中有机硒含量约占总硒含量的63.74%。邓桂春等<sup>[35]</sup>报道的富硒蛹虫草的有机硒形态以硒蛋白为主,占总硒含量的85.5%。本研究最佳处理组蛹虫草子实体的有机硒占比为91.34%,高于以上报道。在其他富硒载体中,液体培养基中的硒浓度为20 mg/kg时,金针菇的有机化程度达75%以上<sup>[36]</sup>;以 $\text{NaN}_3$ 为诱变剂,采用高浓度的 $\text{H}_2\text{O}_2$ 筛选酿酒酵母变异株,其有机硒占总硒的百分比超过97%<sup>[37]</sup>;MRS培养基中添加40  $\mu\text{g/mL}$ 的亚硒酸钠培养乳酸菌,2 h时硒的转化率高达80%以上<sup>[38]</sup>。本研究最佳处理组所得富硒蛹虫草的有机硒转化率要高于以上报道中的金针菇和乳酸菌,说明蛹虫草具有极高的硒保健产品开发潜力。

富硒蛹虫草作为天然补硒品,可以通过食补的方式为人体提供所需的硒元素。本研究获得的高有机硒蛹虫草毒性相对更低且更易于人体吸收。根据中国营养学会推荐成年人每日硒摄入量为50  $\mu\text{g}$ <sup>[39]</sup>,本研究最佳处理组的蛹虫草子实体的硒含量为115.17  $\mu\text{g/g}$ ,正常情况下每日仅需食用子实体干品0.43 g即可满足人体补硒需求。本研究结果也为其他富硒载体提高有机硒转化率提供了参考。

#### 参考文献:

- [1] 李傲瑞,乔新星,赵飞飞,等. 硒与人体健康关系研究进展[J]. 绿色科技, 2020(12): 121-122.
- [2] Newman R, Waterland N, Moon Y, et al. Selenium biofortification of agricultural crops and effects on plant nutrients and bioactive compounds important for human health and disease prevention: a review[J]. Plant Foods Hum Nutr, 2019, 74(4): 449-460.
- [3] Zhou X B, Yang J, Kronzucker H J, et al. Selenium biofortification and interaction with other elements in plants: a review[J]. Front Plant Sci, 2020, 11: 586421.
- [4] Ng T B, Wang H X. Pharmacological actions of *Cordyceps*, a prized folk medicine[J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2010, 57(12): 1509-1519.
- [5] Debnath S, Agarwal A, Kumar N R, et al. Selenium-based drug development for antioxidant and anticancer activity[J]. Future Pharmacology, 2022, 2(4): 595-607.
- [6] 王惠艳,曾道明,郭志娟,等. 天然富硒土地划定的富硒阈值[J]. 环境科学, 2021, 42(1): 333-342.
- [7] 贺栋,祁珊珊,郑红星,等. 硒的生理功能及富硒产品研究进展[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(1): 191-196.
- [8] Rayman M P. Selenium and human health[J]. The Lancet, 2012, 379(9822): 1256-1268.
- [9] Falandysz J. Selenium in edible mushrooms[J]. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev, 2008, 26(3): 256-299.
- [10] 王立平,唐德剑,沈亚美,等. 硒的营养缺乏现状及补充方式[J]. 食品工业, 2020, 41(1): 339-343.
- [11] 胡婷,惠改芳,赵桂慎,等. 富硒食用菌研究进展[J]. 食用菌学报, 2019, 26(1): 68-76.
- [12] 罗信昌,陈士瑜. 中国菇业大典[M]. 第2版. 北京: 清华大学出版社, 2016: 1685-1686.
- [13] 张姝,张永杰, BHUSHANS,等. 冬虫夏草菌和蛹虫草菌的研究现状、问题及展望[J]. 菌物学报, 2013, 32(4): 577-597.
- [14] 钟鸣,王丽贺. 蛹虫草中硒的赋存形态及蛋白硒分析[J]. 广东微量元素科学, 2008, 15(3): 35-40.
- [15] 齐秀兰,曾红,田洪丽,等. 啤酒酵母菌对无机硒的有机转化[J]. 微生物学杂志, 2007, 27(3): 6-10.
- [16] Hu T, Liang Y, Zhao G S, et al. Selenium biofortification and antioxidant activity in *Cordyceps militaris* supplied with selenate, selenite, or selenomethionine[J]. Biological Trace Element Research, 2019, 187(2): 553-561.
- [17] 郭玉峰,周婷,肖子扬,等. 从天然蛹虫草不同部位分离菌株特性比较[J]. 菌物学报, 2021, 40(11): 2981-2994.
- [18] 李剑梅,冯敏,谢存一,等. 不同组织分离期对大圆头蛹虫草菌种性能的影响[J]. 微生物学杂志, 2021, 41(6): 111-116.
- [19] 苏丹,杨智远,孙蕊,等. 药食兼用真菌蛹虫草的液体发酵培养条件优化[J]. 中国食用菌, 2021, 40(3): 52-56.
- [20] 王新风,陶刚琴,陈媛媛. 富硒酵母的培养和硒核酸提取的研究[J]. 中国食品学报, 2006, 6(6): 52-57.

- [21] 李志林,滑鹏敏.十二烷基硫酸钠模板法制备纳米硒[J].无机盐工业,2009,41(7):32-34.
- [22] 张志红,刘臣.邻苯二胺紫外分光光度法测定富硒米中的硒[J].北京石油化工学院学报,2015,23(3):11-14.
- [23] Morschbacher A P, Dullius A, Dullius C H, et al. Validation of an analytical method for the quantitative determination of selenium in bacterial biomass by ultraviolet-visible spectrophotometry[J]. Food Chem,2018,255:182-186.
- [24] 刘娜,朱棠君,赵志湘.联苯胺比色法测定饲料中有机硒的含量[J].中国畜牧杂志,2010,46(24):54-55.
- [25] 张园园,王勇,李悦,等.秦巴山区富硒蛹虫草有效成分及硒存在形态分析[J].菌物研究,2020,18(3):189-194.
- [26] 刘晓蕾,王菊甜,谭珍珠,等.喷施不同浓度生物纳米硒对秀珍菇产量和硒含量的影响[J].南方农业,2022,16(23):12-14.
- [27] 陈新宇,王裕霞,徐斌,等.不同硒源处理对竹荪子实体营养成分的影响[J].林业与环境科学,2021,37(2):21-26.
- [28] 林培捷,陈柏雄,陈乐涛,等.高产虫草素的蛹虫草新品种选育[J].食品与生物技术学报,2022,41(3):59-65.
- [29] 施新琴,乔鹏,李化秀,等.不同菌株及培养基质对蛹虫草氨基酸组成的影响[J].蚕业科学,2019,45(4):614-619.
- [30] 杜双田,辛亚平,阳经慧,等.亚硒酸钠对蛹虫草生长及子座硒含量的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2012,40(7):209-214.
- [31] 马麦艳,张相锋,马正海,等.Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>对药食用真菌蛹虫草子实体生长及功能成分腺苷、虫草素的影响[J].新疆农业科学,2019,56(8):1510-1517.
- [32] 徐联鹏,吴萍,陆晨晖,等.富硒秀珍菇的培育及其营养品质评价[J].南京晓庄学院学报,2021,37(6):53-58.
- [33] 郭天宇,徐宁彤,曲琪环.叶面喷施不同硒肥对水稻含硒量及产量的影响[J].江苏农业科学,2017,45(7):59-61.
- [34] 张驰.富硒虫草中硒的赋存形态及分布特点[J].食品科学,2009,30(23):193-195.
- [35] 邓桂春,侯松媚,铁梅,等.富硒蛹虫草试样中硒的形态分析[J].分析科学学报,2006,22(1):21-24.
- [36] 何炎炘,李能树.富硒金针菇栽培及成分分析研究[J].农学学报,2015,5(2):75-78.
- [37] 孙朝阳,张玉英,潘利华,等.高富硒酵母菌株的筛选及其富硒特性分析[J].中国酿造,2020,39(9):116-120.
- [38] 韦梦婷,王英,单成俊,等.富硒乳酸菌的筛选和体外活性的研究[J].食品工业科技,2021,42(8):102-108.
- [39] 中国营养学会.中国居民膳食营养素参考摄入量:2023版[M].北京:人民卫生出版社,2023:273-279.